

# BREVET D'INVENTION



CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

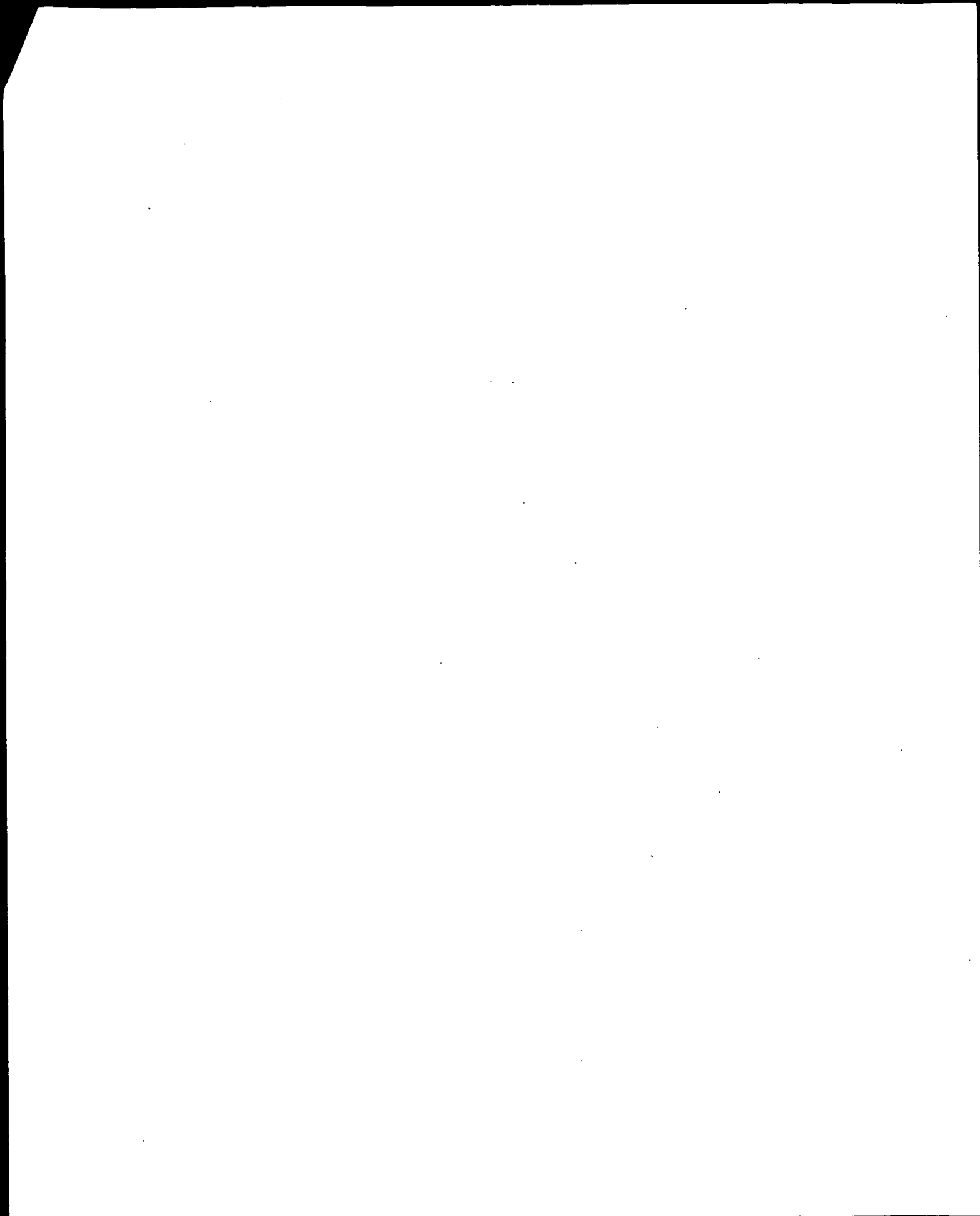
## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 24 JUIL 2001

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE



**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES **20 JAN. 1999**  
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL **99 00587 -**  
DEPARTEMENT DE DÉPÔT **75**  
DATE DE DÉPÔT **20 JAN. 1999**

**1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE  
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE**

**CABINET LAVOIX**  
**2 Place d'Estienne d'Orves**  
**75441 PARIS CEDEX 09**

**2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle**

☒ brevet d'invention ☐ demande divisionnaire

☐ certificat d'utilité ☐ transformation d'une demande de brevet européen

**demande initiale**

☐ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent références du correspondant **BFF 98/0621** téléphone **53-20-14-20**

**Établissement du rapport de recherche**

☐ différé ☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance ☐ oui ☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

**Composés tripeptidiques utiles à titre d'inhibiteurs sélectifs de l'aminopeptidase A et compositions pharmaceutiques correspondantes.**

**3 DEMANDEUR (S)** n° SIREN code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)**

Forme juridique

Nationalité (s) **Française**

Adresse (s) complète (s)  
**101 Rue de Tolbiac, 75013 PARIS**

Pays  
**FR**

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre ☐

**4 INVENTEUR (S)** Les inventeurs sont les demandeurs ☐ oui ☒ non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

**5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES** ☐ requise pour la 1ère fois ☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

**6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE**  
pays d'origine numéro date de dépôt nature de la demande

**7 DIVISIONS** antérieures à la présente demande n° date n° date

**8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE**  
(nom et qualité du signataire)

**CABINET LAVOIX**  
**M. MONCHENY n° 92.1179**

*M. Monchény*

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

*Cm*



# BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITE

## DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

### DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 Paris Cédex 08  
Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

99 00587

### TITRE DE L'INVENTION :

**Composés tripeptidiques utiles à titre  
d'inhibiteurs sélectifs de l'aminopeptidase A et compositions  
pharmaceutiques correspondantes.**

### LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE  
(INSERM)**

**101 Rue de Tolbiac, 75013 PARIS FRANCE FRANCE**

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

**ROQUES Bernard**

**38, rue Cabanis 75014 PARIS FRANCE**

**FOURNIE-ZALUSKI Marie-Claude**

**16 avenue de Bouvines 75011 PARIS FRANCE**

**BISCHOFF Laurent**

**38, rue de la sablière 75014 PARIS FRANCE**

**DAVID Christelle**

**Résidence Les Damades**

**2, allée Jules Vallès 92000 NANTERRE FRANCE**

**LLORENS-CORTES Catherine**

**9 avenue de la Promenade**

**91440 BURES/YVETTE FRANCE**

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

**Paris, le 10 Mars 1999**

**CABINET LAVOIX**

**M. MONCHENY n° 92.1179**

*N. Monchény*

# DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

PAGE(S) DE LA DESCRIPTION OU DES REVENDICATIONS OU PLANCHE(S) DE DESSIN			R.M.*	DATE DE LA CORRESPONDANCE	TAMPON DATEUR DU CORRECTEUR
Modifiée(s)	Supprimée(s)	Ajoutée(s)			
p 25 à 29	p 30		X	27/7/99	J P M - 02 AOUT 1999

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention « R.M. » (revendications modifiées).

La présente invention a pour objet de nouveaux composés à intérêts thérapeutiques utiles notamment à titre d'inhibiteurs sélectifs de l'aminopeptidase A et les compositions pharmaceutiques correspondantes.

5 L'aminopeptidase A est une ectopeptidase à zinc impliquée de façon très spécifique dans la dégradation de substrats peptidiques possédant en position N-terminale un résidu Asp ou Glu.

Parmi les peptides biologiquement actifs du système nerveux  
10 central ou périphérique, l'octapeptide C-terminal de la cholécystokinine CCK<sub>8</sub> et l'angiotensine II constituent précisément des substrats physiologiques de l'aminopeptidase A.

La CCK<sub>8</sub> interagit avec deux types de récepteurs, les sites CCK-A  
15 principalement situés à la périphérie et les récepteurs CCK-B préférentiellement situés dans le système nerveux central. Au niveau périphérique, la CCK<sub>8</sub> stimule les contractions de la vésicule biliaire et de l'iléon, augmente la mobilité intestinale et stomacale, favorise la sécrétion d'enzymes pancréatiques. Dans le  
20 système nerveux central, la CCK<sub>8</sub> régule le comportement alimentaire, favorise la libération d'hormones hypophysaires et induit des modifications comportementales liées à l'anxiété.

En conséquence, l'emploi d'inhibiteurs de la dégradation de la CCK<sub>8</sub> constitue un moyen efficace pour intervenir au niveau de ces différents processus physiologiques et donc les moduler.

25

En ce qui concerne l'angiotensine II et son métabolite, l'angiotensine III, elles font partie de la cascade angiotensinergique, interagissent avec les récepteurs ATI et ATII et interviennent de façon différente dans le contrôle central et périphérique de la pression sanguine et la libération  
30 d'hormones hypophysaires comme la vasopressine.

En conséquence, dans ce cas particulier, il est envisageable de moduler la pression artérielle et la libération de vasopressine en inhibant la dégradation de l'angiotensine II en angiotensine III. Ceci constituerait une voie

thérapeutique pour traiter l'hypertension artérielle essentielle et secondaire, l'insuffisance cardiaque et rénale, les troubles de l'homéostasie hydrodynamique, l'infarctus du myocarde et la protéinurie chez les diabétiques.

Des inhibiteurs d'APA ont déjà été proposés dans la littérature. Ils répondent plus particulièrement à la formule générale A suivante :



dans laquelle  $\text{R}_\text{A}$  représente préférentiellement une chaîne aliphatique substituée par un groupe chargé négativement (Wilk *et al.* (1990) *Neuropeptides* **16**, 163-168 ; Chauvel *et al.* (1994) *J. Med. Chem.* **37**, 1339-1346, *J. Med. Chem.* **37**, 2950-2956).

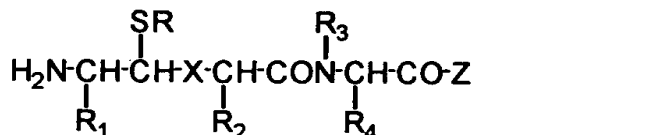
Toutefois cette famille de composés présente l'inconvénient majeur d'être dénuée d'un caractère sélectif à l'égard de l'aminopeptidase A.

Parallèlement à l'inhibition de l'aminopeptidase A, ces composés inhibent également l'aminopeptidase N. C'est ainsi que leurs  $\text{K}_\text{i}$  sont au mieux de l'ordre de  $10^{-7}$  M sur l'APA et leur facteur de sélectivité vis à vis de l'APN relativement faible (inférieur à 100).

Il est clair que ce comportement non sélectif constitue un handicap sur le plan thérapeutique.

La présente invention a précisément pour objet de proposer une nouvelle famille de composés qui avantageusement possède un caractère de sélectivité à l'égard de l'APA.

Plus précisément, la présente invention a pour objet un composé de formule générale I :



dans laquelle :

- $\text{R}_1$  représente une chaîne alkyle, alkényle ou alkynyle, cycloalkyle, ou (cycloalkyle)alkyle substituée par au moins un groupement

—  $\text{-COOH}$ , éventuellement estérifié par un groupe alkyle comportant de 2 à 12 atomes de carbone,

—  $\text{SO}_3\text{H}$ , éventuellement protégé par un groupement néopeptidique,

5 —  $\text{PO}_3\text{H}_2$ , éventuellement substitué par un groupement  $(\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{SCOCH}_3)$ , ou

— tétrazolyle.

•  $\text{R}_2$  représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle, (cycloalkyle)alkyle, (hétéroaryl)alkyle substituée ou non par au moins un  
10 groupement OH, OR,  $\text{SR}'$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHR}'$ , guanidinyne,  $\text{COOH}$ ,  $\text{CONH}_2$ , ou un atome d'halogène choisi parmi le F, Cl, Br ou I avec  $\text{R}'$  représentant un alkyle en  $\text{C}_1$  à  $\text{C}_4$  linéaire ou ramifié.

•  $\text{R}_3$  représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle,

•  $\text{R}_4$  représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle,  
15 (cycloalkyl)alkyle, (hétéroaryl)alkyle, hétérocycloalkyle ou (hétérocycloalkyl)alkyle substituée par au moins un groupement  $\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CONH}_2$ ,  $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ ,  $\text{PO}_3\text{H}_2$  ou tétrazolyle, avec les groupements  $\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{SO}_3\text{H}$  et  $\text{PO}_3\text{H}_2$  pouvant être protégés comme décrit ci-dessus,

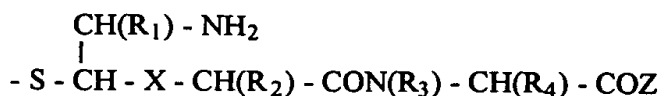
•  $\text{R}_3$  et  $\text{R}_4$  peuvent constituer ensemble un composé hétérocyclique, à 5 ou 6  
20 chaînons, substitué par au moins un groupement  $\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CONH}_2$ ,  $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{SO}_2\text{NH}_2$  ou  $\text{PO}_3\text{H}_2$  avec les groupements  $\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{SO}_3\text{H}$  et  $\text{PO}_3\text{H}_2$  pouvant être protégés comme décrit ci-dessus,

• X représente un groupement  $\text{CONH}$  ou  $\text{CH}_2\text{NH}$ ,

• Z représente un groupement OH,  $\text{OCH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$  ou  $\text{NR}''\text{R}'''$  dans lequel  $\text{R}''$  et  $\text{R}'''$   
25 peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec  $\text{R}''$  et  $\text{R}'''$  pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,

• R représente un atome d'hydrogène ou un groupement de formule II





## II

correspondant au disulfure symétrique de l'inhibiteur avec R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, X et Z étant tels que définis ci-dessus, et leurs dérivés.

- 5 Les définitions des différents groupements proposés dans la formule générale I des composés revendiqués sont précisées dans la liste ci-dessous. Ces définitions s'appliquent aux termes tels qu'ils sont utilisés à travers ce texte (à moins qu'elles soient limitées à des exemples précis) soit individuellement soit en tant que faisant partie d'un groupe plus large.
- 10 C'est ainsi qu'au sens de l'invention, on entend désigner par :
- Alkyle, une chaîne aliphatique saturée linéaire ou ramifiée de 1 à 6 carbones.
  - Alkényle, une chaîne aliphatique linéaire ou ramifiée de 2 à 6 carbones possédant une double liaison.
  - 15 - Alkynyle, une chaîne aliphatique de 2 à 6 carbones possédant une triple liaison.
  - Cycloalkyle, un cycle hydrocarboné saturé de 3 à 6 carbones.
  - Aryle, un cycle aromatique à 6 carbones, condensé ou non et/ou substitué ou non par un ou deux autres cycles aromatiques à 6 carbones.
  - 20 - Hétéroaryle, un hétérocycle aromatique à 5 ou 6 chaînons contenant 1 ou 2 hétéroatomes choisi parmi N, S, O, éventuellement condensés ou substitués par un cycle aromatique à 6 carbones.
  - Hétérocycloalkyle, un hétérocycle saturé à 5 ou 6 chaînons contenant 1 ou 2 hétéroatomes pris parmi N, S, O éventuellement condensé ou substitué par
  - 25 un cycle saturé à 6 chaînons.

Au sens de la présente invention, on entend couvrir sous le terme "dérivés" notamment les sels d'addition des composés de formule générale (I) obtenus avec des acides organiques ou minéraux pharmacologiquement

30 acceptables. Il peut par exemple s'agir de sels tels que les chlorhydrate,

bromhydrate, sulfate, nitrate, borate, phosphate, méthane sulfonate, acétate, fumarate, succinate, ascorbate, oxalate, lactate, pyruvate, citrate, tartrate, maléate, malonate, benzoate, diaminobenzène sulfonate, chromoglycate, benzène sulfonate, cyclohexane sulfonate, toluène sulfonate, dipropyl acétate,  
5 glucose-1 phosphate, palmoate et palmitate.

Parmi ces dérivés, on peut également citer les dimères de composés de formule générale I, constitués par deux molécules de composés de formule générale I, identiques ou différentes, couplées entre elles au niveau  
10 de leurs atomes de soufre respectifs. Dans ce cas particulier, R représente le groupement de formule II identifié précédemment.

De même, la présente invention s'étend aux différentes formes énantiomériques des composés revendiqués.

En effet, les composés de formule (I), possédant plusieurs  
15 carbones asymétriques, ils existent sous forme de mélanges soit racémiques ou de diastéréoisomères ou encore sous forme de stéréoisomères purs.

Les composés optiquement purs peuvent être isolés par des synthèses énantiosélectives ou des résolutions par des amines chirales. Dans le cas de procédés de préparation conduisant à des mélanges de  
20 stéréoisomères, une séparation par HPLC semi-préparative sur colonne (Kromasil C<sub>18</sub>, 20x250 mm, CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O) est effectuée, permettant une étude biochimique et pharmacologique séparée de chaque stéréoisomère.

Parmi ces stéréoisomères, sont préférés ceux possédant une  
25 configuration absolue (S) ou (R) sur le carbone portant le groupement R<sub>1</sub>, (S) ou (R) sur le carbone portant la fonction -SR, et (S) sur les carbones portant les groupements R<sub>2</sub> et R<sub>4</sub>.

Selon un mode préféré de l'invention, les composés revendiqués  
30 répondent à la formule générale II dans laquelle X représente une fonction CONH et plus préférentiellement R, un atome d'hydrogène.

Plus préférentiellement,  $R_2$  représente une chaîne alkyle ou arylalkyle substituée le cas échéant et de préférence par un groupement hydroxyle.

5 Par ailleurs, s'avèrent tout particulièrement intéressants les composés dans lesquels  $R_4$  représente une chaîne alkyle de préférence en  $C_1$  à  $C_3$  substituée par un groupement  $CO_2H$ ,  $CONH_2$ ,  $SO_3H$ ,  $SO_2NH_2$ ,  $PO_3H_2$  ou tétrazolyle et de préférence un groupement  $CO_2H$  ou  $SO_3H$ .

10 A titre illustratif des composés convenant à la présente invention on peut plus particulièrement citer les suivants :

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Asp ;

15 les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp ;

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp- $NH_2$  ;

les N-[(2RS,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Sal ;

20 les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.hSal ; et

les N-[(2S,3S) et (2R,3S), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-carboxylate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp.

25 Dans les composés précédents, les abréviations Sal et hSal désignent respectivement le motif sulfoalanine et homosulfoalanine.

Les composés revendiqués sont accessibles par des voies de synthèse différentes selon la définition du groupement X.

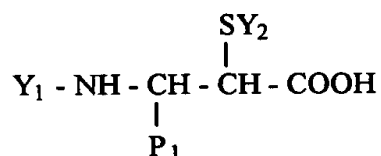
30 La présente invention a également pour objet un procédé utile pour préparer les composés de formule générale (I) dans laquelle X représente un groupement CONH comprenant au moins le couplage d'un dipeptide ester de formule générale III



dans laquelle

- 5                   —     P<sub>2</sub> et P<sub>4</sub> correspondent à des formes protégées de R<sub>2</sub> et R<sub>4</sub>,  
                       —     R<sub>3</sub> est tel que défini ci-dessus et  
                       —     Z' représente un groupement OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou NR''R''' dans lequel R'' et R''' peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec  
 10   R'' et R''' pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,

avec un composé de formule générale IV

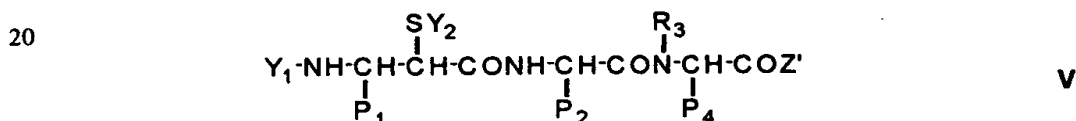


IV

15   dans laquelle :

- Y<sub>1</sub> représente un groupement protecteur  
                       —     Y<sub>2</sub> représente un groupement protecteur et  
                       —     P<sub>1</sub> représente une forme protégée de R<sub>1</sub>,

dans des conditions suffisantes pour conduire via le composé V



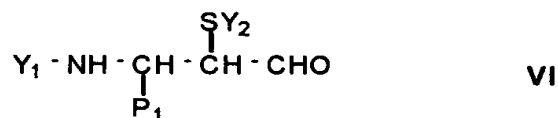
et sa déprotection audit composé de formule générale I.

25                   La réaction de couplage est réalisée de manière conventionnelle dans un solvant organique, en présence d'un agent de couplage et d'une amine tertiaire, à une température de l'ordre de 20°C.

Généralement, le couplage de l'acide de formule (IV) sur l'amine générale (III) est effectué en opérant dans un solvant organique comme le dichlorométhane ou le diméthylformamide, en utilisant comme réactif de couplage, un composé du type BOP [benzotriazol-1-yl-oxy-tris(diméthylamino)-  
 5 phosphonium hexafluorophosphate], HATU [O-(7-azabenzotriazol-1-yl)1,1,3,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate], ou TFFH [tétraméthylfluoroformamidinium hexafluorophosphate] à une température de mélange réactionnel voisine de 20°C et en présence d'une amine tertiaire comme la diisopropyléthylamine.

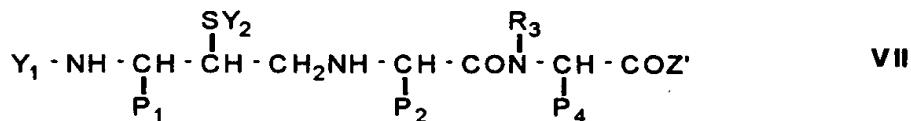
10 Les conditions de couplage mettent en jeu préférentiellement comme réactif le BOP (benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate) en présence de diisopropyléthylamine dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Les composés de formule générale (I) dans laquelle X représente  
 15 un groupement CH<sub>2</sub>NH peuvent être obtenus par un procédé comprenant au moins la condensation d'un composé de formule générale III telle que définie ci-dessus et d'un composé de formule générale VI,



20

dans laquelle Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub> et P<sub>1</sub> sont tels que définis précédemment puis réduction de l'intermédiaire ainsi formé pour conduire via le composé de formule générale VII



25

et sa déprotection audit composé de formule générale I.

Le dipeptide ester de formule générale III possède deux carbones asymétriques. Selon un mode préféré de l'invention, on privilégie la  
 30 configuration S de chaque acide aminé.

En ce qui concerne le composé de formule générale IV, il possède deux carbones asymétriques C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub>. La stéréochimie de C<sub>3</sub> est définie par

celle de l'acide aminé utilisé à l'origine de la synthèse dudit composé IV selon l'un des deux schémas de synthèse définis ci-après.

La réduction de l'intermédiaire peut être réalisée par toute méthode conventionnelle. Généralement, elle est effectuée in situ par ajout  
5 d'une quantité suffisante d'un réducteur organique comme un borohydrure et plus préférentiellement du borohydrure de sodium ou du cyanoborohydrure.

En ce qui concerne les réactions de protection et déprotection elles relèvent des compétences de l'homme de l'art.

A titre représentatif des groupements protecteurs susceptibles  
10 d'être retenus dans le cadre de la présente invention, on peut notamment privilégier pour  $Y_1$ , un groupement t. butyloxycarbonyl (t. Boc), benzyloxycarbonyl (Cbz) ou fluorenyloxycarbonyl (Fmoc), et pour  $Y_2$ , un groupement p. methoxybenzyle ou diméthoxybenzyle.

Bien entendu, le choix de ces groupements protecteurs est opéré  
15 en considérant la nature de la réaction à faire subir aux composés correspondants et de manière à protéger efficacement, lors du déroulement de cette réaction, les groupes fonctionnels considérés.

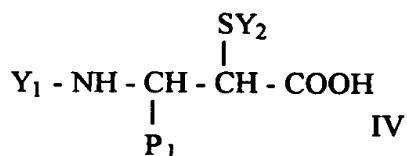
Les réactions de déprotection sont bien entendu sélectionnées en fonction de la nature des groupes protecteurs.

20 Ainsi les composés V et VII avec de préférence  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_4$  tels que définis ci-dessus sont généralement déprotégés par traitement avec un mélange TFA/anisole ou  $BBr_3$  dans  $CH_2Cl_2$  ou HBr dans l'acide acétique, ou HF pour conduire aux composés I (avec  $X = CONH$  et  $X = CH_2NH$ , respectivement).

25 Toutefois, lorsque  $P_1$  et/ou  $P_4$  contiennent un groupement sulfonate protégé  $SO_3CH_2t.Bu$ , une étape supplémentaire de déprotection par chauffage avec du chlorure de tétraméthylammonium dans le DMF est nécessaire pour conduire aux composés I ayant des groupements  $R_1$  et/ou  $R_3$  possédant un sulfonate libre, sauf dans le cas d'une déprotection par HF.

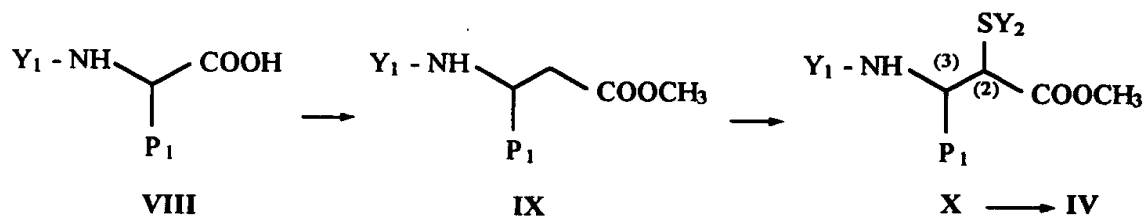
30

En ce qui concerne les composés de formule générale IV



ils sont eux-mêmes accessibles par deux méthodes de synthèse distinctes.

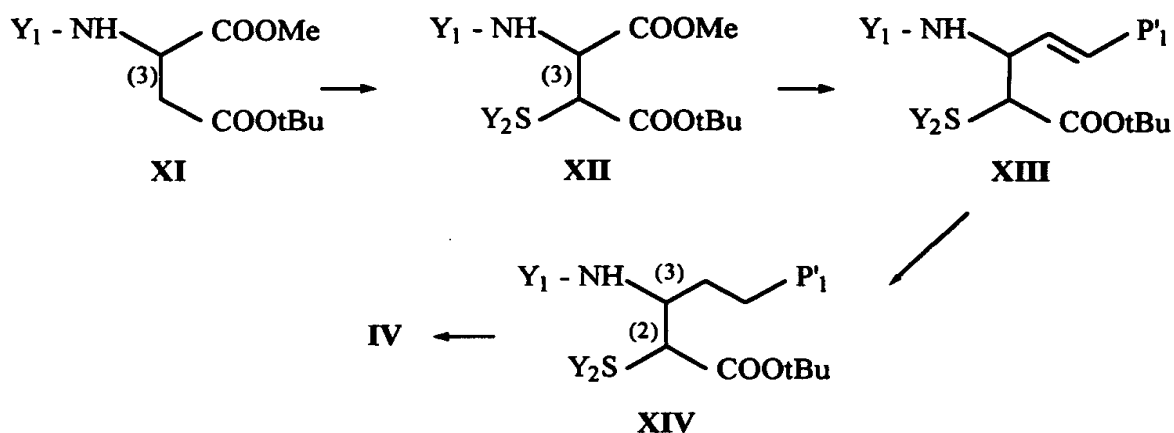
La première voie de synthèse est illustrée par le schéma réactionnel suivant.



Un  $\alpha$ -acide aminé protégé sur le N-terminal VIII est homologué par une méthode bien connue de l'homme de l'art en  $\beta$ -amino ester IX. Une réaction de sulfénylation par des réactifs décrits dans Shibata et al. (Synlett. (1996)519-520 ; Tetrahedron 52(1996)12839-12852) ou dans Bischoff et al. (J. Org. Chem. 62(1997)4848-4850) en présence de LDA ou LiHMDS, conduit ensuite au dérivé X qui après hydrolyse alcaline de l'ester méthylique conduit au composé IV.

Les  $\alpha$ -acides aminés N protégés VIII sont commerciaux ou peuvent être préparés dans des conditions énantiosélectives par la méthode d'Oppolzer (Tetrahedron Lett. 30(1989)6009-6010).

Dans le cadre de la présente invention, il a été mis au point une seconde voie de synthèse qui peut être illustrée par le schéma réactionnel suivant :



Cette seconde méthode de synthèse a pour avantage d'être diastéréosélective. Elle comprend les étapes consistant à :

- sulfényler le diester N protégé de formule XI de l'acide aspartique de configuration 2 donnée en un composé XII de configurations 2 et 3 identiques mais inversées par rapport à la configuration du composé de formule XI,
- à réduire la fonction ester  $\alpha$  en aldéhyde,
- à la condenser in situ avec un réactif organique de manière à obtenir un composé de formule générale XIII de même configuration et portant un groupement  $\text{P}'_1$  qui est tel que le  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}'_1$  soit un précurseur du groupement  $\text{P}_1$ ,
- à réduire ledit composé de formule XIII en composé XIV sous forme de 2 diastéréoisomères et
- à les hydrolyser en milieu acide pour obtenir le composé de formule IV attendu.

A titre illustratif de ce type de mode de synthèse on peut notamment proposer le suivant :



Le diester, N protégé XI de l'acide aspartique de configuration S, par exemple, est sulfénylé comme décrit dans la méthode précédente en composé XI de configuration 2R,3R. La fonction ester en  $\alpha$  est réduite par le dibal (diisobutyl aluminium hydruure) en aluminosyacétal puis est condensée in situ avec un dialkylphosphonate ou un ylure de phosphonium, conduisant ainsi au composé insaturé XII de même configuration. La réduction de XII par un hydruure de cuivre  $[(Ph_3P)CuH]_6$  conduit à XIII, majoritairement de même configuration (d.e. 85%). La réduction de la double liaison par  $NaBH_4$ , par des dérivés du bore, tels que le diborane dans l'acide acétique, ou le cyclohexane en présence de Palladium conduit à XIII sous forme de 2 diastéréoisomères. Par hydrolyse acide, on obtient le composé IV.

Comme énoncé précédemment, le composé IV possède deux carbones asymétriques,  $C_2$  et  $C_3$ . La stéréochimie de  $C_3$  est définie par celle de l'acide aminé utilisé en début de synthèse (schéma 1 ou schéma 2) car elle n'est pas modifiée au cours des différentes étapes.

La réaction de sulfénylation est diastéréosélective et se fait en anti.

Au cours des étapes de réduction en milieu basique (XIII  $\rightarrow$  XIV) une épimérisation sur le carbone  $C_2$  au pied du soufre permet d'obtenir les stéréoisomères manquants qui sont séparés par chromatographie sur colonne après couplage du dipeptide ou par HPLC après couplage et déprotection partielle.

On obtient ainsi les quatre stéréoisomères du composé de formule générale IV. Selon un mode préféré de l'invention, on privilégie la formation de l'isomère 2R, 3R.

Les composés revendiqués s'avèrent capables d'inhiber significativement et sélectivement l'aminopeptidase A par rapport à l'aminopeptidase N.

Ce facteur de sélectivité est généralement supérieur à  $10^2$  et plus préférentiellement à  $10^3$ .

En conséquence, la présente invention a également pour objet l'utilisation des composés revendiqués à titre d'inhibiteurs sélectifs à l'égard de l'aminopeptidase A.

A ce titre, les composés revendiqués peuvent être utilisés en  
5 thérapie dans tous les processus pathologiques initiés par des substrats physiologiques de l'aminopeptidase A comme l'octapeptide C-terminal de la cholécystokinine CCK8 et l'angiotensine II et dont les rôles physiologiques ont été commentés précédemment. Ils peuvent ainsi être utilisés pour diminuer la prise alimentaire, moduler des états d'anxiété ou de crises de panique ou traiter  
10 l'hypertension artérielle essentielle et secondaire, l'insuffisance cardiaque et rénale, les troubles de l'homéostasie hydrodynamique, l'infarctus du myocarde et la protéinurie chez les diabétiques.

A ces fins, les composés revendiqués et leurs dérivés peuvent être utilisés pour la préparation de compositions pharmaceutiques  
15 correspondantes.

Plus particulièrement, la présente invention concerne, selon un autre de ses aspects, une composition pharmaceutique comprenant en tant que principe actif au moins un composé de formule générale (I) ou un de ses dérivés.

20 Bien entendu, ce composé peut y être associé à au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

De même on peut envisager d'introduire conjointement deux ou plusieurs composés de formule générale I dans une même composition pharmaceutique.

25 Ces compositions pharmaceutiques peuvent être administrées par voie orale, parentérale, sublinguale, transdermique ou topique.

En ce qui concerne l'administration par voie orale ou sublinguale, on utilise en particulier des comprimés, simples ou dragéifiés, des gélules, des granules éventuellement à libération retardée, des gouttes ou encore des  
30 liposomes. En ce qui concerne l'administration par voie intraveineuse, sous-cutanée ou intramusculaire, on a recours à des solutions stériles ou stérilisables en particulier pour perfusion veineuse, tandis que l'on peut réaliser les patches conventionnels pour l'administration par voie transdermique.

Les compositions pharmaceutiques selon la présente invention peuvent être préparées selon des méthodes usuelles bien connues dans le domaine de la technique pharmaceutique.

Le principe actif peut être incorporé dans les excipients habituellement employés dans ces compositions pharmaceutiques, tels que le talc, la gomme arabique, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, les véhicules aqueux ou non, les corps gras d'origine animale ou végétale, les dérivés paraffiniques, les glycols, les différents agents mouillants, dispersants ou émulsifiants, les conservateurs, etc.

La quantité de principe actif à administrer par jour dépend bien entendu de la particularité de l'indication thérapeutique, de la gravité des affections à traiter, ainsi que du poids du malade et de la voie d'administration.

Pour une administration systémique, la dose globale chez l'homme varie généralement entre 1 et 100 mg par jour, par exemple de 2 à 50 mg, et plus convenablement de 3 à 40 mg par jour.

Des formes unitaires de dosage pour l'administration systémique comprendront généralement de 3 à 50 mg (à savoir 3, 5, 10, 20, 30, 40, et 50 mg de produit). Ces doses unitaires seront administrées normalement une ou plusieurs fois par jour, de préférence une à trois fois par jour.

Pour l'administration topique, les compositions pharmaceutiques contiennent généralement de 0,0001 à 1 % de principe actif et de préférence de 0,01 à 5 %.

Les composés décrits selon l'invention peuvent également être utilisés dans le cadre d'applications non thérapeutiques en particulier dans des systèmes de diagnostic et de mesure de l'expression de l'aminopeptidase A.

La présente invention a également pour objet un système de diagnostic pour détecter et doser l'aminopeptidase A caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé de formule générale I.

Les exemples présentés ci-après à titre non limitatif mettront en évidence d'autres avantages de la présente invention.

**EXEMPLE – 1 -**

**N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Asp.**

5    **ETAPE 1.**

Acide (2R,3R), 2-benzyloxycarbonylamino, 3-(4-méthoxybenzyl sulfanyl)succinique 1-méthyl, 4-tertbutyl diesters.

Sous argon, à une solution de 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazane (36 ml ; 171 mmol) dans le tetrahydrofuranne sec (375 ml) est ajoutée, goutte à  
 10 goutte à 0°C une solution de n-butyl lithium 2,5 M dans n-hexane (56 ml ; 140 mmol) et le milieu est agité ~15 min à 0°C. La solution est refroidie à -78°C et le composé Z-L.Asp(OtBu)-OMe (20,7 g ; 61 mmol) dans le THF sec (255 ml) est ajouté goutte à goutte. Après agitation du mélange réactionnel pendant 2 h entre -40°C et -30°C, le milieu est refroidi à -78°C et le disulfure de 4-méthoxybenzyle  
 15 et de 2,4-dinitrophényle (30 g ; 85,4 mmol) solide est ajouté. Après 1 h à -78°C, le milieu est hydrolysé par HCl 1N (200 ml) et le produit extrait par 500 ml d'Et<sub>2</sub>O. La phase organique est lavée par 100 ml d'acide citrique, 100 ml H<sub>2</sub>O, 100 ml NaCl saturé, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporée à sec. Le résidu est repris par de l'Et<sub>2</sub>O froid et le précipité d'agent de sulfénylation en excès est filtré. Le filtrat après  
 20 évaporation à sec, est purifié par flash chromatographie sur gel de silice (éluant cHex, AE, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 8 : 1 : 1, R<sub>f</sub> = 0,19) donnant des cristaux jaunes, 20 g (68 %) (ee : 95/5). HPLC C<sub>18</sub> Kromasil (5 µ, 100 Å) isocratique CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) 75 : 25, t<sub>R</sub> = 9,9 min, P<sub>f</sub> = 71,6-73,3°C.

25    **ETAPE 2.**

Acide (2R,3R), 2-benzyloxycarbonylamino, 3-(4-méthoxybenzyl sulfanyl), 5-(2,2-diméthylpropanoxysulfonyl), pent-4-énoïque tert.butyl ester.

A une solution de diéthylphosphonométhane sulfonate de néopentyle (2,5 g ; 8,2 mmol) dans THF sec (37 ml) à -78°C sous argon, est ajoutée goutte à  
 30 goutte, une solution de n-butyl lithium 2,5 M dans hexane (3,5 ml ; 8,6 mmol). Le mélange est agité pendant 30 min à -78°C puis une solution du composé de l'étape 1 (2 g ; 4,1 mmol) dans le THF sec (4 ml) est ajoutée, suivi, goutte à goutte d'une solution de Dibal-H 1,5 M dans le toluène (5,3 ml ; 8 mmol). Après agitation

4 h à  $-78^{\circ}\text{C}$  et 1 heure à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé par  $\text{H}_2\text{O}$  (8 ml) et  $\text{HCl}$  2N (8 ml). La phase aqueuse est alors extraite par 160 ml d'AE. La phase organique est lavée par  $\text{NaCl}$  saturé, séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et le solvant évaporé à sec. Le produit pur est obtenu après flash chromatographie  
 5 (éluant  $\text{cHex}$ , AE,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  7 : 1.5 : 1.5,  $R_f = 0,39$ ) sous forme d'une huile jaune, 1,6 g (68 %). HPLC  $\text{C}_{18}$  Kromasil (5  $\mu$ , 100 Å) isocratique  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (TFA) 75 : 25  $t_R = 17,1$  min. SM (Electrospray) : 629,8 =  $\text{MNa}^+$ .

### ETAPE 3.

10

#### • Procédure 1.

Acide (2RS,3R), 2-benzyloxycarbonylamino, 3-(4-méthoxybenzyl sulfanyl), 5-(2,2-diméthylpropanoxysulfonyl)pentanoïque tert.butyl ester.

L'éthylénique obtenu dans l'étape 2 (10 g ; 16,4 mmol) dans EtOH  
 15 (164 ml) est réduit par  $\text{NaBH}_4$  (996 mg ; 26,3 mmol) pendant 3 h à température ambiante. Après un traitement classique, le produit est obtenu sous forme d'une huile orange, 10 g (99 %).  $R_f(\text{cHex}, \text{CH}_2\text{Cl}_2, \text{AE } 6 : 2 : 2) = 0,50$ . Il présente une épimérisation totale sur le C3. HPLC  $\text{C}_{18}$  Kromasil (5  $\mu$ , 100 Å) isocratique  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (TFA) 75 : 25  $t_R = 15,9$  min et 16,6 min.

20

#### • Procédure 2.

Acide (2R,3R), 2-benzyloxycarbonylamino, 3-(4-méthoxybenzyl sulfanyl), 5-(2,2-diméthylpropanoxysulfonyl)pentanoïque tert.butyl ester.

Une solution de l'éthylénique précédent (100 mg ; 0,16 mmol) dans le  
 25 benzène (2,5 ml) est dégazée sous argon pendant 15 minutes. A cette solution sont ajoutés successivement à température ambiante 60  $\mu\text{l}$  (3,3 mmol) d'eau puis 120 mg (0,06 mmol) de  $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{CuH}]_6$ . Le milieu réactionnel est agité pendant 3 heures à température ambiante puis hydrolysé par une solution de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , et extrait par l'AE. La phase organique est lavée par  $\text{NaCl}$  saturée, séchée sur  
 30  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et évaporée à sec donnant le produit (80 mg ; 80 %) sous forme d'huile jaune présentant un excès énantiomérique de 80 : 20. HPLC  $\text{C}_{18}$  Kromasil (5  $\mu$ , 100 Å) isocratique  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (TFA) 75 : 25  $t_R = 16,6$  min.

## ETAPE 4.

Acide (2RS, 3R), 2-benzyloxycarbonylamino, 3-(4-méthoxybenzyl sulfanyl), 5-(2,2-diméthylpropanoxysulfonyl) pentanoïque.

Une solution du composé de l'étape 3 (10 g ; 16,4 mmol) dans le  
 5 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (13 ml) est traitée par anisole (630 µl ; 5 % vol.) et le TFA (12,6 ml ; 164 mmol) et conduit après 3 heures d'agitation à température ambiante, à l'acide attendu qui est chromatographié (gel de silice, flash, éluant cHex, Et<sub>2</sub>O, HCOOH 4 : 6 : 0,1, R<sub>f</sub> = 0,40) donnant une mousse rouge, 6,1 g (69 %). HPLC C<sub>18</sub> Kromasil (5 µ, 100 Å) isocratique CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) 75 : 25 t<sub>R</sub> = 5,6 min.

10

## ETAPE 5.

N-[(2R,3R) et (2S,3R), 3-benzyloxycarbonylamino, 5-[2,2-diméthylpropanoxysulfonyl], 2-[4-méthoxybenzylsulfanyl]pentanoyl]-L.Tyr(t.Bu)-L.Asp(OtBu)-OtBu.

A une solution du composé de l'étape 4 (1,0 g ; 1,8 mmol) dans le  
 15 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (24 ml) est ajouté le dipeptide H-Tyr(tBu)-Asp(OtBu)-OtBu (1,0 g ; 2,2 mmol), suivi de 1,12 g (2,5 mmol) de BOP et de 0.95 ml (5,4 mmol) de DIEA. Après 4 heures d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé et le résidu repris dans l'AE. La phase organique est lavée par KHSO<sub>4</sub> 10 %, NaHCO<sub>3</sub> saturé et NaCl saturé, et séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée sous pression réduite.  
 20 Le résidu est purifié par flash chromatographie sur gel de silice (éluant cHex, AE 6,5 : 3,5, R<sub>f</sub> = 0,34 et 0,25) permettant d'obtenir chaque stéréoisomère séparé, 614 mg (P<sub>f</sub> = 127,2-129,4°C) et 670 mg (P<sub>f</sub> = 126,8-129,8°C) sous forme de poudres blanches (84 %). HPLC C<sub>18</sub> Kromasil (5 µ, 100 Å) isocratique CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) 80 : 20 t<sub>R</sub> = 26,7 min et 23,98 min, respectivement.

25

## ETAPE 6.

N-[2R,3R) et (2S,3R), 3-benzyloxycarbonylamino, 5-[2,2-diméthylpropanoxysulfonyl], 2-[4-méthoxybenzylsulfanyl]pentanoyl]-L.Tyr-L.Asp.

A une solution de pseudo-tripeptide (1<sup>er</sup> diastéréoisomère, 0,5 g ;  
 30 0,5 mmol) dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml) sont ajoutés à 0°C, 60 µl d'anisole (5 % vol.) et l'acide trifluoroacétique (1,2 ml ; 15 mmol) et le mélange réactionnel est agité pendant 3,5 heures à température ambiante. Après évaporation à sec, le résidu est repris par de l'Et<sub>2</sub>O froid et le précipité obtenu est tritué dans le même solvant. Le

produit est récupéré après décantation de la phase étherée sous forme d'une poudre blanche (412 mg ; 98 % ;  $P_f = 168,6-171^\circ\text{C}$ ), redissout dans  $\text{H}_2\text{O}$  et lyophilisé avant l'étape de déprotection finale. HPLC  $\text{C}_{18}$  Kromasil ( $5\ \mu$ , 100 Å) isocratique  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (TFA)  $t_R = 18,6\ \text{min}$ .

5

#### ETAPE 7.

N-[[ $(2R,3R)$  et  $(2S,3R)$ ], 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate]pentanoyl]-L.Tyr-L.Asp.

A 357 mg de pseudo-tripeptide de l'étape 6 (0,43 mmol) sont ajoutés 500  $\mu\text{l}$  de méta-crésol distillé extemporanément, puis à  $-78^\circ\text{C}$ , 10 ml de fluorure d'hydrogène liquide. Après agitation pendant 1 heure à  $0^\circ\text{C}$ , le HF est évaporé sous vide. Le résidu est repris par 2 x 1 ml de TFA et le produit est obtenu par précipitation dans  $\text{Et}_2\text{O}/n$ -hexane froid et centrifugation. Le composé est enfin purifié par HPLC semi-préparative  $\text{C}_8$  Kromasil ( $10\ \mu$ , 100 Å) en gradient  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (TFA) de 10 à 60%,  $t_R = 6\ \text{min}$ , donnant une poudre blanche (94 mg ; 45 %). SM (Electrospray) : 507,7 = M, 529,6 =  $\text{MNa}^+$ .

15

#### EXEMPLE - 2 -

N-[[ $(2S,3R)$  et  $(2R,3R)$ ], 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp.

20

En suivant les étapes 1 à 4 de l'exemple 1 et après couplage de l'acide obtenu avec le dipeptide H-Ile-Asp(OtBu)-OtBu comme décrit dans l'étape 5 de l'exemple 1, le pseudo-tripeptide est alors déprotégé selon les étapes 6 et 7 de l'exemple 1. Les 2 stéréoisomères  $(2R,3R)$  et  $(2S,3R)$  sont obtenus sous forme de 2 poudres blanches (109 mg et 80 mg). HPLC  $\text{C}_{18}$  Kromasil ( $5\ \mu$ , 100 Å) isocratique  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (TFA) 15/85,  $t_R = 6,2\ \text{min}$  et 3,7 min.

25

A partir de la Z-D.Asp(OtBu)-OMe et suivant les étapes 1 à 7 décrites précédemment, les 2 stéréoisomères  $(2S,3S)$  et  $(2R,3S)$  sont obtenus sous forme de 2 poudres blanches (21 mg et 54 mg). HPLC  $\text{C}_{18}$  Kromasil ( $5\ \mu$ , 100 Å) isocratique  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (TFA) 15/85,  $t_R = 6,0\ \text{min}$  et 3,7 min. SM (Electrospray) 458,1 =  $\text{MH}^+$ , 480,1 =  $\text{MNa}^+$ .

30

**EXEMPLE – 3 -**

**N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp-NH<sub>2</sub>.**

5 En suivant les étapes 1 à 7 décrites dans l'exemple 1 mais en couplant avec le dipeptide H-Ile-Asp(OtBu)-NH<sub>2</sub>, sont obtenus les deux stéréoisomères du composé désiré, sous forme de 2 poudres blanches (20 mg et 10 mg). HPLC C<sub>18</sub> Kromasil (5 µ, 100 Å) isocratique CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) 15/85, t<sub>R</sub> = 3,5 min et 4,9 min. SM (Electrospray) : 456,9 = M, 478,9 = MNa<sup>+</sup>.

10

**EXEMPLE – 4 -**

**N-[(2RS,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Sal.**

15 Après synthèse des étapes 1 à 4 décrites dans l'exemple 1, l'acide est couplé en phase solide avec le dipeptide H-Tyr(tBu)-Sal(OCH<sub>2</sub>tBu) greffé sur une résine de type Wang en utilisant l'agent de couplage BOP et de la diisopropyléthylamine. Les étapes de déprotection 6 et 7 décrites en exemple 1 permettent d'obtenir les 2 stéréoisomères séparés en mélange, du composé désiré (2,2 mg, poudre blanche). HPLC C<sub>18</sub> Kromasil (5 µ, 100 Å) en gradient CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) de 10 à 20 60 %, t<sub>R</sub> = 4,1 min.

**EXEMPLE – 5 -**

**N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.hSal.**

25

Selon le même procédé utilisé dans l'exemple 4 avec le dipeptide H-Tyr(tBu)-hSal(OCH<sub>2</sub>tBu) greffé sur une résine Wang, les deux stéréoisomères séparés sont obtenus sous forme de 2 poudres blanches (4 et 7 mg). HPLC C<sub>8</sub> Kromasil (5 µ, 100 Å) gradient CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) de 10 à 60 %, t<sub>R</sub> = 2,8 min et 3,4 min. SM (Electrospray) : 557,9 = M, 579,9 = MNa<sup>+</sup>.

30



**EXEMPLE – 6 -**

**N-[(2S,3S) et (2R,3S), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-carboxylate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp.**

5 L'étape 1 est similaire à celle décrite en exemple 1 à partir de Z-L.Asp(OtBu)OMe. L'étape 2 est réalisée de la même façon que dans l'exemple 1, en utilisant le diéthylphosphonoacétate de benzyle comme réactif. A partir donc de diéthylphosphonoacétate de benzyle (3,4 g ; 11,8 mmol) et du composé de l'étape 1 (2,9 g ; 5,92 mmol), on obtient, après flash chromatographie sur gel de silice  
10 (éluant cHex, AE, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 8:1:1, R<sub>f</sub> = 0,38), le composé désiré sous forme de cristaux blancs (2,0 g ; 58 %). HPLC C<sub>18</sub> Kromasil (5 µ ; 100 Å) CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) 75/25, t<sub>R</sub> = 18,2 min. SM (Electrospray) : 613,9 = MNa<sup>+</sup>.

La synthèse des étapes 3 à 7 conformément à celles de l'exemple 1 permet l'obtention des deux stéréoisomères séparés (2S,3S) et (2R,3S) sous forme de 2  
15 poudres blanches (27 et 5 mg) HPLC C<sub>8</sub> Kromasil (5 µ, 100 Å) isocratique CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (TFA) 15/85, t<sub>R</sub> = 10.2 min et 11,0 min. SM (Electrospray) : 421,8 = MH<sup>+</sup>.

**ETAPE 8.**

20 Méthane sulfonate de 2,2-diméthyl-propyle ou méthane sulfonate 2,2-diméthylpropyl ester.

A une solution de 59 ml (769 mmol) de chlorure de méthane sulfonyl et 68 g (769 mmol) d'alcool néopentylique dans 330 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à 0°C est additionnée goutte à goutte une solution de 114 ml (808 mmol) de triéthylamine dans 82 ml  
25 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le milieu est dilué par 400 ml Et<sub>2</sub>O, la phase organique est lavée par HCl 1N, NaCl saturé, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et évaporée à sec. Le composé obtenu (118 g, 93 %) est utilisé sans autre purification.

**ETAPE 9.**

Diéthylphosphoryl méthane sulfonate de 2,2-diméthylphosphoryl)-méthane sulfonic acid 2,2-diméthylpropyl ester

A 56,4 g (339 mmol) de méthane sulfonate de 2,2-diméthylphosphoryl)-méthane sulfonic acid 2,2-diméthylpropyl ester  
 5 990 ml de tétrahydrofuranne sont ajoutés goutte à goutte à la solution de n-butyl lithium 2,5 M dans n-hexane (373 ml).  
 d'agitation à cette température, 27 ml (187 mmol) de diéthylphosphoryl sont additionnés goutte à goutte. Le mélange est agité pendant 1h à 50°C. Après ajout de 210 ml de HCl 2N, le mélange est dilué avec  
 10 500 ml d'éther et la phase organique est lavée successivement avec une solution saturée, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée. Le résidu est purifié par chromatographie, gel de silice, éluant : n-heptane, AE 100, pour donner une huile jaune pâle (54 g ; 96 %).

15 **Diéthyl phosphoryl acétate de benzyle ou (diéthoxyphosphoryl)acétate de benzyle.**

Ce réactif est synthétisé selon la procédure décrite dans la littérature (1992).

20 **Tétrabenzyl diphosphoryl méthylène ou (dibenzylphosphonate de dibenzyle.**

Ce réactif est synthétisé selon la procédure décrite dans la littérature.

**EXEMPLE – 7 -**

25 **ETUDE IN VITRO DU POUVOIR INHIBITEUR DES COMPLEXES DE L'AMINOPEPTIDASE A ET L'AMINOPEPTIDASE N.**

**a) Etude in vitro du pouvoir inhibiteur des complexes de l'aminopeptidase A.**

30 **1°) Purification de l'enzyme.**

L'aminopeptidase A est obtenue à partir de rein de porc (Schwartz et al, "Neuropeptides 16 (1990)163-168". Le substrat syn-

glutamyl- $\beta$ -naphthylamide (Glu NA,  $K_m = 130 \mu M$ ). L'enzyme purifiée présente une activité spécifique vis à vis de Glu NA de  $100 \mu mol.mL^{-1}.li^{-1}$ .

**2°) Méthode de dosage.**

Le procédé décrit par Goldbarg "*Cancer 11 (1958)283-291*" a été transposé à  
5 l'échelle de la microplaque.

L'APA est incubée pendant 1 h à  $37^\circ C$  en présence de  $200 \mu M$  Glu NA et en présence de concentrations variables d'inhibiteurs dans le tampon Tris HCl ( $50 mM$ ),  $pH = 7,4$ ,  $4 mM CaCl_2$  (volume final  $100 \mu l$ ). La réaction est stoppée par addition de  $10 \mu l$  d'HCl  $3N$ . On ajoute alors dans chaque puit  $25 \mu l$  de  $NaNO_2$   
10 ( $87 mM$ ), puis, 3 min après,  $50 \mu l$  de sulfamate d'ammonium ( $0,13 M$ ). Enfin, au bout de 5 min, on ajoute  $25 \mu l$  d'une solution  $23 mM$  de 1-naphthyléthylène diamine à  $37^\circ C$ . L'absorbance à  $560 nm$  est mesurée et comparée à celle d'une gamme étalon standard de 2-naphthylamine.

15 **b) Etude *in vitro* du pouvoir inhibiteur des composés synthétisés sur l'aminopeptidase N.**

**1°) Source de l'enzyme.**

L'aminopeptidase N purifié à partir du rein de porc est commercialisé chez  
Boehringer Mannheim (Meylan, France).

20 **2°) Méthode de dosage.**

L'APN est incubée pendant 10 min à  $37^\circ C$  en absence ou en présence de concentrations croissantes d'inhibiteurs dans un volume total de  $100 \mu l$  dans le tampon Tris HCl ( $50 mM$ ,  $pH = 7,4$ ). On ajoute  $200 \mu M$  de Ala-Na et on incube 30 min à  $37^\circ C$ . La réaction est stoppée par addition de  $10 \mu l$   $CH_3COO-Na$   $1M$   
25 ( $pH = 4,2$ ). L'absorbance est mesurée à  $400 nm$  et comparée à celle d'une gamme étalon de 2-naphthylamine.

### c) Résultats.

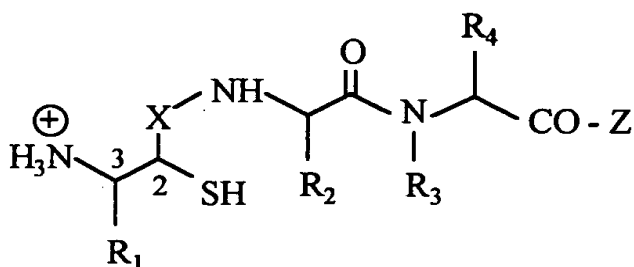
#### POUVOIRS INHIBITEURS SUR APN.

Tous les composés présentés dans le tableau suivant ont des  $K_i$  sur l'APN, compris entre  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$  M.

#### 5 POUVOIRS INHIBITEURS SUR APA

Les  $K_i$  obtenus figurent dans le tableau I ci-après.

Les composés testés répondent à la formule générale suivante.



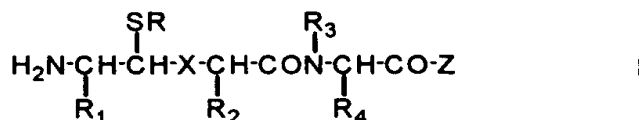
Les valeurs de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $X$ ,  $R_4$  et  $Z$  sont précisées dans le tableau I

10 ci-après.

$R_1$	X	$R_2$	$R_3$	$R_4$	Z	Exemple	Ki(M) APA	Ki(M) APN
5	$(CH_2)_2-SO_3^-$	$CH_2-p(C_6H_4)-OH$	H	$CH_2-CO_2H$	OH	1A	$2.7 \times 10^{-8}$	$4.8 \times 10^{-5}$
	$(CH_2)_2-SO_3^-$	$CH(CH_3)CH_2CH_3$	H	$CH_2-CO_2H$	OH	1B	$4.3 \times 10^{-9}$	$3.1 \times 10^{-5}$
						2A	$5.3 \times 10^{-8}$	$> 10^{-4}$
						2B	$3.2 \times 10^{-9}$	$> 10^{-4}$
						2C	$5.5 \times 10^{-8}$	$> 10^{-4}$
10	$(CH_2)_2-SO_3^-$	$CH(CH_3)CH_2CH_3$	H	$CH_2CO_2H$	$NH_2$	2D	$2.1 \times 10^{-8}$	$2.5 \times 10^{-5}$
						3A	$4.7 \times 10^{-7}$	$5.1 \times 10^{-5}$
						3B	$1.4 \times 10^{-8}$	$4.4 \times 10^{-5}$
	$(CH_2)_2-SO_3^-$	$CH_2-p(C_6H_4)-OH$	H	$CH_2SO_3H$	OH	4A+B	$3.7 \times 10^{-8}$	$1.0 \times 10^{-5}$
	$(CH_2)_2-SO_3^-$	$CH_2-p(C_6H_4)-OH$	H	$(CH_2)_2-SO_3H$	OH	5A	$7.3 \times 10^{-8}$	$7.5 \times 10^{-6}$
15						5B	$9.3 \times 10^{-9}$	$4.6 \times 10^{-6}$
	$(CH_2)_2-COO^-$	$CH(CH_3)CH_2CH_3$	H	$CH_2-CO_2H$	OH	6A	$1.48 \times 10^{-8}$	$1.2 \times 10^{-7}$
						6B	$1.64 \times 10^{-8}$	$3.9 \times 10^{-6}$

**REVENDEICATIONS**

1. Composé de formule générale I :



dans laquelle :

• R<sub>1</sub> représente une chaîne alkyle, alkényle ou alkynyle, cycloalkyle, ou (cycloalkyle)alkyle substituée par au moins un groupement

– COOH, éventuellement estérifié par un groupe alcoyle ou alkyle comportant de 2 à 12 atomes de carbone,

– SO<sub>3</sub>H, éventuellement protégé par un groupement néopeptidique, éventuellement protégé par un groupement néopeptidique,

– PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, éventuellement substitué par un groupement (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCOCH<sub>3</sub>), ou

– tétrazolyle.

• R<sub>2</sub> représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle, (cycloalkyle)alkyle, (hétéroaryl)alkyle substituée ou non par au moins un groupement OH, OR, SR', NH<sub>2</sub>, NHR', guanidinyne, COOH, CONH<sub>2</sub>, ou un atome d'halogène choisi parmi le F, Cl, Br ou I avec R' représentant un alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub> linéaire ou ramifié.

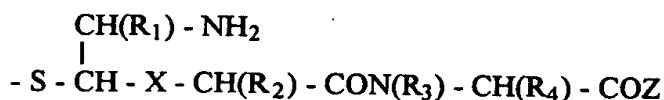
• R<sub>3</sub> représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle,

• R<sub>4</sub> représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle, (cycloalkyl)alkyle, (hétéroaryl)alkyle, hétérocycloalkyle ou (hétérocycloalkyl)alkyle substituée par au moins un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou tétrazolyle avec les groupements CO<sub>2</sub>H, SO<sub>3</sub>H et PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> le cas échéant protégés comme décrit ci-dessus,

• R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> peuvent constituer ensemble un composé hétérocyclique, à 5 ou 6 chaînons, substitué par au moins un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> ou PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> avec les groupements CO<sub>2</sub>H, SO<sub>3</sub>H et PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> le cas échéant protégés comme décrit ci-dessus,

• X représente un groupement CONH ou CH<sub>2</sub>NH,

- Z représente un groupement OH, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou NR''R''' dans lequel R'' et R''' peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec R'' et R''' pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N et
- R représente un atome d'hydrogène ou un groupement de formule II



II

- correspondant au disulfure symétrique de l'inhibiteur avec R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, X et Z étant tels que définis ci-dessus,
- 10 et leurs dérivés.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que X représente une fonction CONH.

3. Composé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que R<sub>2</sub> représente une chaîne alkyle ou arylalkyle substituée le cas échéant.

- 15 4. Composé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que R<sub>4</sub> représente une chaîne alkyle de préférence en C<sub>1</sub> à C<sub>3</sub> substituée par un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou tétrazolyle.

5. Composé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi :

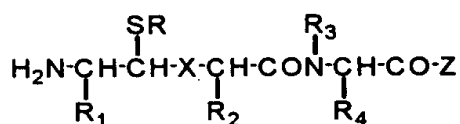
- 20 les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Asp ;
- les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp ;
- les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp-NH<sub>2</sub> ;
- 25 les N-[(2RS,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Sal ;

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.hSal ; et

les N-[(2S,3S) et (2R,3S), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-carboxylate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp.

5 6. Procédé de préparation d'un composé de formule générale

I



10

avec R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R et Z tel que défini en revendication 1 et X représentant un groupement CONH, caractérisé en ce qu'il comprend au moins le couplage d'un dipeptide ester de formule générale III

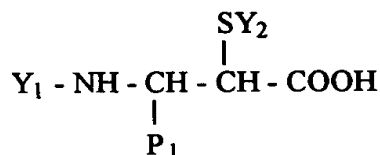


15

dans laquelle

- P<sub>2</sub> et P<sub>4</sub> correspondent à des formes protégées de R<sub>2</sub> et R<sub>4</sub>,
  - R<sub>3</sub> est tel que défini ci-dessus et
  - Z' représente un groupement OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou
- 20 NR''R''' dans lequel R'' et R''' peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec R'' et R''' pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,

25 avec un composé de formule générale IV,



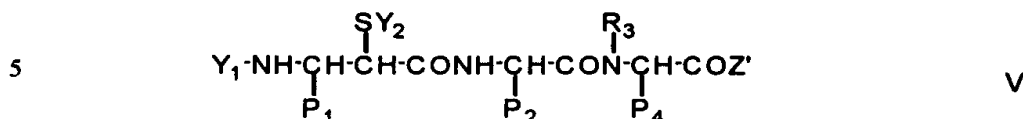
IV

dans laquelle :

- Y<sub>1</sub> représente un groupement protecteur



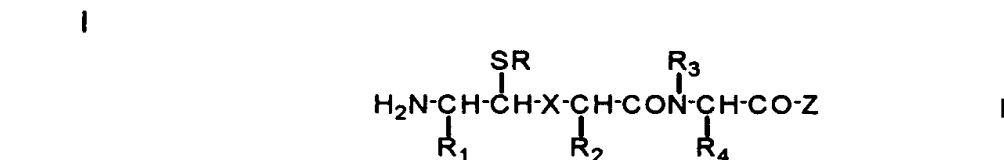
- $Y_2$  représente un groupement protecteur
- $P_1$  représente une forme protégée de  $R_1$ ,  
dans des conditions suffisantes pour conduire via le composé V



et sa déprotection audit composé de formule générale I.

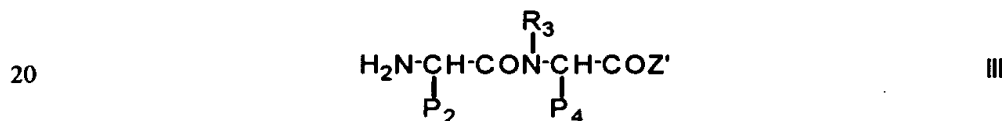
7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que la réaction de couplage est réalisée dans un solvant organique, en présence d'un agent de couplage et d'une amine tertiaire et à une température de l'ordre de 20°C.

8. Procédé de préparation d'un composé de formule générale

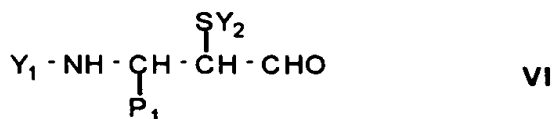


dans laquelle  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R$  et  $Z$  sont tels que définis en revendication 1 et  $X$  représente un groupement  $\text{CH}_2\text{-NH}$ , caractérisé en ce qu'il comprend au moins :

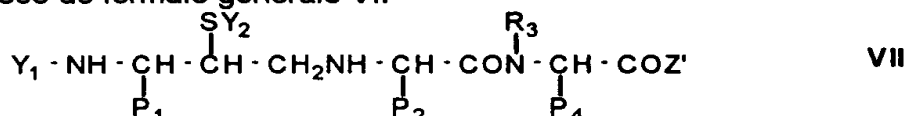
- la condensation d'un composé de formule générale III



- $Z'$  représente un groupement  $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ,  $\text{OCH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$  ou  $\text{NR}''\text{R}'''$  dans lequel  $R''$  et  $R'''$  peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec  $R''$  et  $R'''$  pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,
- avec un composé de formule générale VI,



- 5 dans laquelle  $\text{Y}_1$ ,  $\text{Y}_2$  et  $\text{P}_1$  sont tels que définis en revendication 6,  
 — la réduction de l'intermédiaire ainsi formé pour conduire via  
 le composé de formule générale VII

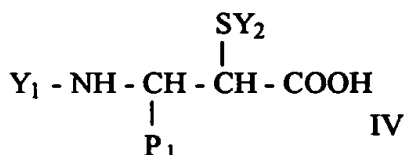


- 10 et sa déprotection audit composé de formule générale I.

9. Procédé selon l'une des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que les deux carbones asymétriques du dipeptide ester de formule générale III possèdent une configuration S.

10. Procédé de préparation d'un composé de formule générale

15 IV

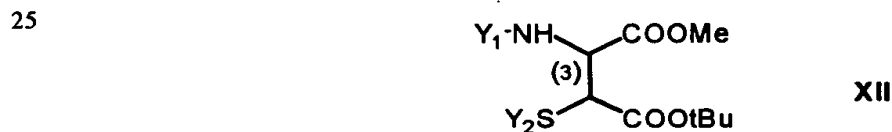


dans laquelle  $\text{Y}_1$ ,  $\text{Y}_2$  et  $\text{P}_1$  sont tels que définis en revendication 6,  
 caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

— sulfényler le diester N protégé de formule XI de l'acide aspartique de configuration 2 donnée

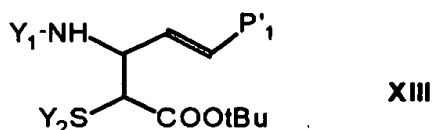



en un composé XII de configurations 2 et 3 identiques mais inversées par rapport à la configuration du composé de formule XI



- à réduire la fonction ester en  $\alpha$ , en aldéhyde
- à la condenser in situ avec un réactif organique de manière à obtenir un composé de formule générale XIII de même configuration

5



dans laquelle  $\text{P}'_1$  est défini de manière à ce que le motif  soit un précurseur du groupement  $\text{P}_1$ ,

10

- à réduire ledit composé de formule XIII sous forme de 2 diastéréoisomères et
- à hydrolyser ces derniers en milieu acide pour obtenir le composé de formule IV attendu.

11. Utilisation d'un composé tel que défini selon l'une des revendications 1 à 5 à titre d'inhibiteur sélectif à l'égard de l'aminopeptidase A.

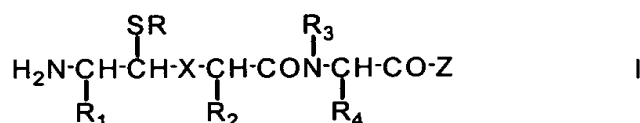
12. Utilisation selon la revendication 11 pour diminuer la prise alimentaire, moduler des états d'anxiété ou de crises de panique ou traiter l'hypertension artérielle essentielle et secondaire, l'insuffisance cardiaque et rénale, des troubles de l'homéostasie hydrodynamique, l'infarctus du myocarde ou la protéinurie chez les diabétiques.

13. Composition pharmaceutique comprenant en tant que principe actif au moins un composé de formule générale (I) ou un de ses dérivés selon l'une des revendications 1 à 5.

14. Système de diagnostic pour détecter et doser l'aminopeptidase A caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé de formule générale I selon l'une des revendications 1 à 5.

**REVENDICATIONS**

1. Composé de formule générale I :



dans laquelle :

• R<sub>1</sub> représente une chaîne alkyle, alkényle ou alkynyle, cycloalkyle, ou (cycloalkyle)alkyle substituée par au moins un groupement

10                   —     -COOH, éventuellement estérifié par un groupe alcoyle ou alkyle comportant de 2 à 12 atomes de carbone,

                      —     SO<sub>3</sub>H, éventuellement protégé par un groupement néopeptidique, éventuellement protégé par un groupement néopeptidique,

15                   —     PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, éventuellement substitué par un groupement (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCOCH<sub>3</sub>) , ou

                      —     tétrazolyle.

• R<sub>2</sub> représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle, (cycloalkyle)alkyle, (hétéroaryl)alkyle substituée ou non par au moins un groupement OH, OR, SR', NH<sub>2</sub>, NHR', guanidinyle, COOH, CONH<sub>2</sub>, ou un  
20    atome d'halogène choisi parmi le F, Cl, Br ou I avec R' représentant un alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub> linéaire ou ramifié.

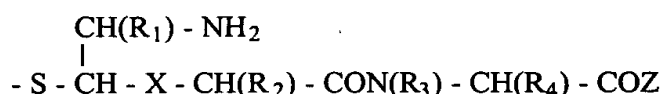
• R<sub>3</sub> représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle,

• R<sub>4</sub> représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle, (cycloalkyl)alkyle, (hétéroaryl)alkyle, hétérocycloalkyle ou  
25    (hétérocycloalkyl)alkyle substituée par au moins un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou tétrazolyle avec les groupements CO<sub>2</sub>H, SO<sub>3</sub>H et PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> le cas échéant protégés comme décrit ci-dessus,

• R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> peuvent constituer ensemble un composé hétérocyclique, à 5 ou 6 chaînons, substitué par au moins un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> ou PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> avec les groupements CO<sub>2</sub>H, SO<sub>3</sub>H et PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> le cas échéant  
30    protégés comme décrit ci-dessus,

• X représente un groupement CONH ou CH<sub>2</sub>NH,

- Z représente un groupement OH, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou NR"R'" dans lequel R" et R'" peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec R" et R'" pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N et
- R représente un atome d'hydrogène ou un groupement de formule II



II

correspondant au disulfure symétrique de l'inhibiteur avec R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, X et Z étant tels que définis ci-dessus,

et leurs dérivés.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que X représente une fonction CONH.

3. Composé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que R<sub>2</sub> représente une chaîne alkyle ou arylalkyle substituée le cas échéant.

4. Composé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que R<sub>4</sub> représente une chaîne alkyle de préférence en C<sub>1</sub> à C<sub>3</sub> substituée par un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou tétrazolyle.

5. Composé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi :

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Asp ;

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp ;

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp-NH<sub>2</sub> ;

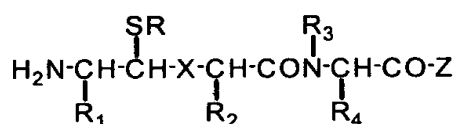
les N-[(2RS,3R), 3-amino, 2-sulphydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Sal ;

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.hSal ; et

les N-[(2S,3S) et (2R,3S), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-carboxylate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp.

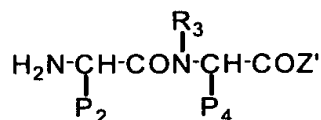
5 6. Procédé de préparation d'un composé de formule générale

I



10

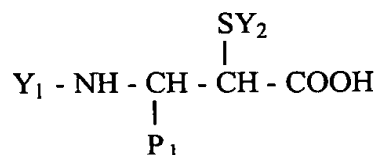
avec R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R et Z tel que défini en revendication 1 et X représentant un groupement CONH, caractérisé en ce qu'il comprend au moins le couplage d'un dipeptide ester de formule générale III



15

dans laquelle

- P<sub>2</sub> et P<sub>4</sub> correspondent à des formes protégées de R<sub>2</sub> et R<sub>4</sub>,
  - R<sub>3</sub> est tel que défini ci-dessus et
  - Z' représente un groupement OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou
- 20 NR''R''' dans lequel R'' et R''' peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec R'' et R''' pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,
- 25 avec un composé de formule générale IV,

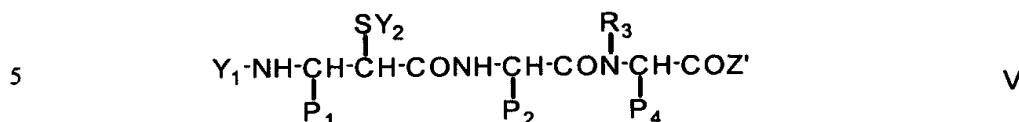


IV

dans laquelle :

- Y<sub>1</sub> représente un groupement protecteur

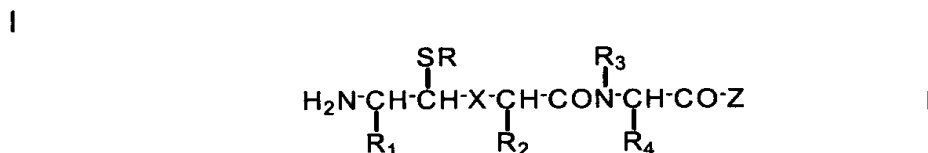
- Y<sub>2</sub> représente un groupement protecteur
  - P<sub>1</sub> représente une forme protégée de R<sub>1</sub>,
- dans des conditions suffisantes pour conduire via le composé V



et sa déprotection audit composé de formule générale I.

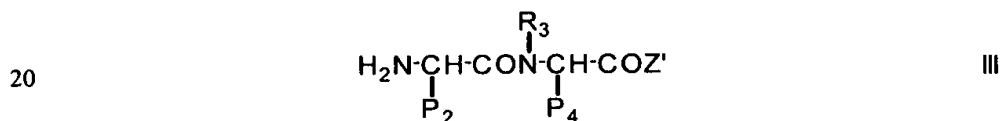
7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que la réaction de couplage est réalisée dans un solvant organique, en présence d'un agent de couplage et d'une amine tertiaire et à une température de l'ordre de 20°C.

8. Procédé de préparation d'un composé de formule générale

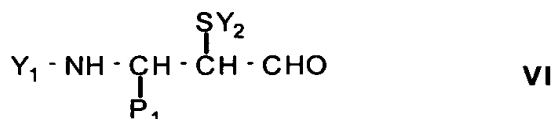


dans laquelle R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R et Z sont tels que définis en revendication 1 et X représente un groupement CH<sub>2</sub>-NH, caractérisé en ce qu'il comprend au moins :

- la condensation d'un composé de formule générale III

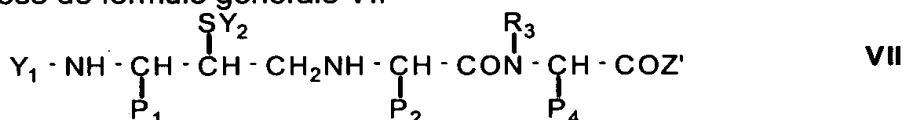


- Z' représente un groupement OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou NR''R''' dans lequel R'' et R''' peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec R'' et R''' pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,
- avec un composé de formule générale VI,



5 dans laquelle  $\text{Y}_1$ ,  $\text{Y}_2$  et  $\text{P}_1$  sont tels que définis en revendication 6,

— la réduction de l'intermédiaire ainsi formé pour conduire via le composé de formule générale VII



10 et sa déprotection audit composé de formule générale I.

9. Procédé selon l'une des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que les deux carbones asymétriques du dipeptide ester de formule générale III possèdent une configuration S.

15 10. Utilisation d'un composé tel que défini selon l'une des revendications 1 à 5 à titre d'inhibiteur sélectif à l'égard de l'aminopeptidase A.

11. Utilisation d'un composé tel que défini selon l'une des revendications 1 à 5 pour préparer un médicament destiné à diminuer la prise alimentaire, moduler des états d'anxiété ou de crises de panique ou traiter l'hypertension artérielle essentielle et secondaire, l'insuffisance cardiaque et  
20 rénale, des troubles de l'homéostasie hydrodynamique, l'infarctus du myocarde ou la protéinurie chez les diabétiques.

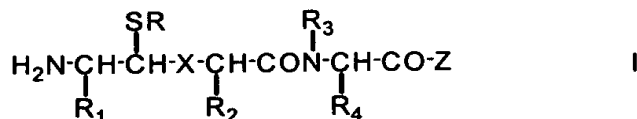
12. Composition pharmaceutique comprenant en tant que principe actif au moins un composé de formule générale (I) ou un de ses dérivés selon l'une des revendications 1 à 5.

25 13. Système de diagnostic pour détecter et doser l'aminopeptidase A caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé de formule générale I selon l'une des revendications 1 à 5.



## REVENDEICATIONS

1. Composé de formule générale I :



dans laquelle :

• R<sub>1</sub> représente une chaîne alkyle, alkényle ou alkynyle, cycloalkyle, ou (cycloalkyle)alkyle substituée par au moins un groupement

10 — -COOH, éventuellement estérifié par un groupe alcoyle ou alkyle comportant de 2 à 12 atomes de carbone,

— SO<sub>3</sub>H, éventuellement protégé par un groupement néopeptidique, éventuellement protégé par un groupement néopeptidique,

15 — PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, éventuellement substitué par un groupement (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCOCH<sub>3</sub>), ou

— tétrazolyle.

• R<sub>2</sub> représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle, (cycloalkyle)alkyle, (hétéroaryl)alkyle substituée ou non par au moins un groupement OH, OR, SR', NH<sub>2</sub>, NHR', guanidinyne, COOH, CONH<sub>2</sub>, ou un  
20 atome d'halogène choisi parmi le F, Cl, Br ou I avec R' représentant un alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub> linéaire ou ramifié.

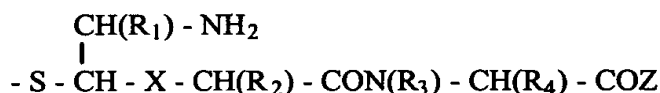
• R<sub>3</sub> représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle,

• R<sub>4</sub> représente une chaîne alkyle, aryle, arylalkyle, cycloalkyle, (cycloalkyl)alkyle, (hétéroaryl)alkyle, hétérocycloalkyle ou  
25 (hétérocycloalkyl)alkyle substituée par au moins un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou tétrazolyle avec les groupements CO<sub>2</sub>H, SO<sub>3</sub>H et PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> le cas échéant protégés comme décrit ci-dessus, à la condition que lorsque R<sub>1</sub> représente un groupement (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H, R un atome d'hydrogène, X un groupement CONH, R<sub>2</sub> un radical pentanoyne, R<sub>3</sub> un atome d'hydrogène et  
30 Z une fonction hydroxyle, R<sub>4</sub> soit différent d'un groupement CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H,

• R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> peuvent constituer ensemble un composé hétérocyclique, à 5 ou 6 chaînons, substitué par au moins un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H,

SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> ou PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> avec les groupements CO<sub>2</sub>H, SO<sub>3</sub>H et PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> le cas échéant protégés comme décrit ci-dessus,

- X représente un groupement CONH ou CH<sub>2</sub>NH,
- Z représente un groupement OH, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou NR''R''' dans lequel R'' et R''' peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec R'' et R''' pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N et
- R représente un atome d'hydrogène ou un groupement de formule II



II

correspondant au disulfure symétrique de l'inhibiteur avec R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, X et Z étant tels que définis ci-dessus, et leurs dérivés.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que X représente une fonction CONH.

3. Composé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que R<sub>2</sub> représente une chaîne alkyle ou arylalkyle substituée le cas échéant.

4. Composé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que R<sub>4</sub> représente une chaîne alkyle de préférence en C<sub>1</sub> à C<sub>3</sub> substituée par un groupement CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou tétrazole.

5. Composé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi :

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Asp ;

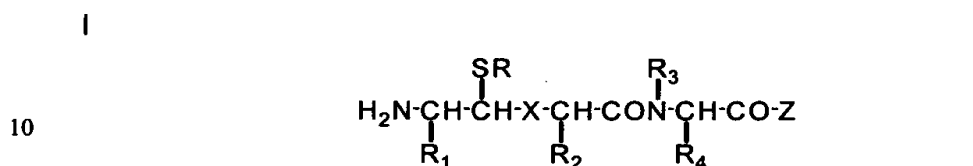
les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp ;

les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Ile-L.Asp-NH<sub>2</sub> ;

les N-[(2RS,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.Sal ; et

5 les N-[(2S,3R) et (2R,3R), 3-amino, 2-sulfhydryl, 5-sulfonate pentanoyl]-L.Tyr-L.hSal.

6. Procédé de préparation d'un composé de formule générale

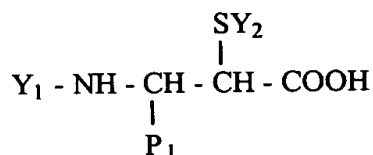


avec R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R et Z tel que défini en revendication 1 et X représentant un groupement CONH, caractérisé en ce qu'il comprend au moins le couplage d'un dipeptide ester de formule générale III



dans laquelle

- P<sub>2</sub> et P<sub>4</sub> correspondent à des formes protégées de R<sub>2</sub> et R<sub>4</sub>,
- 20 — R<sub>3</sub> est tel que défini ci-dessus et
- Z' représente un groupement OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ou NR''R''' dans lequel R'' et R''' peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec R'' et R''' pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,
- 25 avec un composé de formule générale IV,

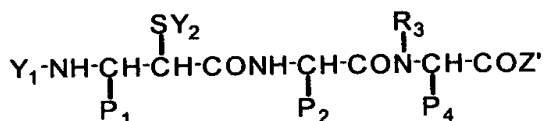


IV

dans laquelle :

- Y<sub>1</sub> représente un groupement protecteur
- Y<sub>2</sub> représente un groupement protecteur
- 5 - P<sub>1</sub> représente une forme protégée de R<sub>1</sub>,

dans des conditions suffisantes pour conduire via le composé V

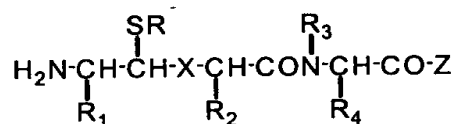


V

10 et sa déprotection audit composé de formule générale I.

7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que la réaction de couplage est réalisée dans un solvant organique, en présence d'un agent de couplage et d'une amine tertiaire et à une température de l'ordre de 20°C.

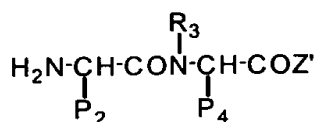
15 8. Procédé de préparation d'un composé de formule générale I



I

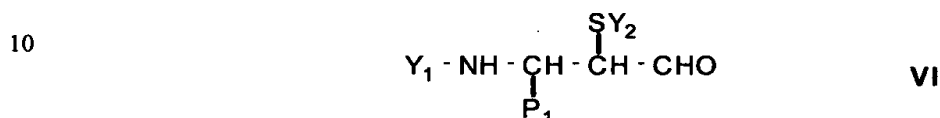
20 dans laquelle R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R et Z sont tels que définis en revendication 1 et X représente un groupement CH<sub>2</sub>-NH, caractérisé en ce qu'il comprend au moins :

- la condensation d'un composé de formule générale III



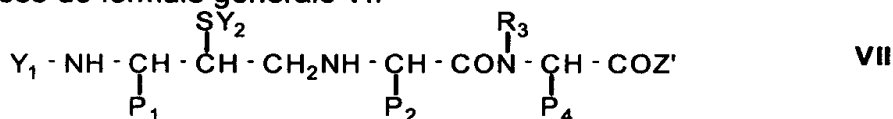
III

- Z' représente un groupement  $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ,  $\text{OCH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$  ou  $\text{NR}''\text{R}'''$  dans lequel  $\text{R}''$  et  $\text{R}'''$  peuvent représenter indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, aryle ou arylalkyle, avec  $\text{R}''$  et  $\text{R}'''$  pouvant constituer ensemble, avec l'atome d'azote, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons possédant le cas échéant un 2<sup>ème</sup> hétéroatome choisi parmi O, S et N,
- avec un composé de formule générale VI,



dans laquelle  $\text{Y}_1$ ,  $\text{Y}_2$  et  $\text{P}_1$  sont tels que définis en revendication 6,

- la réduction de l'intermédiaire ainsi formé pour conduire via
- le composé de formule générale VII



et sa déprotection audit composé de formule générale I.

9. Procédé selon l'une des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que les deux carbones asymétriques du dipeptide ester de formule générale III possèdent une configuration S.

10. Utilisation d'un composé tel que défini selon l'une des revendications 1 à 5 à titre d'inhibiteur sélectif à l'égard de l'aminopeptidase A.

11. Utilisation d'un composé tel que défini selon l'une des revendications 1 à 5 pour préparer un médicament destiné à diminuer la prise alimentaire, moduler des états d'anxiété ou de crises de panique ou traiter l'hypertension artérielle essentielle et secondaire, l'insuffisance cardiaque et rénale, des troubles de l'homéostasie hydrodynamique, l'infarctus du myocarde ou la protéinurie chez les diabétiques.

12. Composition pharmaceutique comprenant en tant que principe actif au moins un composé de formule générale (I) ou un de ses dérivés selon l'une des revendications 1 à 5.

13. Système de diagnostic pour détecter et doser  
5 l'aminopeptidase A caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé de formule générale I selon l'une des revendications 1 à 5.